

Trad. Med. J., January 2013
Vol. 18(1), p 9-16
ISSN : 1410-5918

Submitted : 15-10-2012
Revised : 10-11-2012
Accepted : 20-11-2012

THE TEST OF ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM BAWANG MEKAH LEAVES (*ELEUTHERINE AMERICANA* MERR.) USING DPPH (2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL) METHOD

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN BAWANG MEKAH (*ELEUTHERINE AMERICANA* MERR.) DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)

Dina Pratiwi^{*}, Sri Wahdaningsih, Isnindar

Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat, 78124

ABSTRACT

Use and demand of traditional medicinal plants currently growing in the direction that research in traditional medicines have also increased. One of the plants that is efficacious as a medicine is bawang mekah (Eleutherine americana Merr.). This plant is usually used by people as a traditional medicine to treat various diseases. This study aims to determine the antioxidant activity of bawang mekah leaves. Antioxidant activity assays performed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) that begins with the extraction by maceration. Dry leaves of bawang mekah (150 g) was soaked with ethanol 70% for 3x24 hours at room temperature. The liquid extract obtained is evaporated by rotary evaporator and waterbath till viscous extracts is obtained. Then to extract performed phytochemical screening and preliminary test with DPPH method by thin layer chromatography (TLC) with a mobile phase BAA (4:1:5). The antioxidant activity was measured using a UV-Vis spectrophotometer and compared with vitamin C. The results of the phytochemical screening showed the extract contains flavonoids, saponins, phenols and tannins. In preliminary tests using KLT, gained 3 spots visualized with UV light 366 nm and sprayed with 0.2% DPPH. Third spot showed changes color to yellow with purple background that indicating the extract positive has antioxidant activity. The results of spectrophotometric measurements showed that the extract has the IC_{50} at 31.97437 μ g/ml, whereas vitamin C had a lower IC_{50} value (3.90186 μ g/ml).

Key words : antioxidant activity, bawang mekah leaves, DPPH

ABSTRAK

Penggunaan dan permintaan terhadap tanaman obat tradisional saat ini semakin bertambah sehingga penelitian ke arah obat-obatan tradisional juga semakin meningkat. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat yaitu bawang mekah (Eleutherine americana Merr.). Tanaman ini biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari daun bawang mekah. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yang diawali dengan ekstraksi secara maserasi. Simplisia daun bawang mekah (150 g) direndam dengan etanol 70% selama 3x24 jam pada suhu kamar. Ekstrak etanol cair yang diperoleh diuapkan dengan rotary evaporator dan dipekatkan menggunakan waterbath sehingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian terhadap ekstrak dilakukan skrining fitokimia serta uji pendahuluan dengan metode DPPH secara kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak BAA (4:1:5). Aktivitas antioksidan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dibandingkan dengan vitamin C. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak mengandung senyawa flavonoid, saponin, fenol dan tanin. Pada uji pendahuluan menggunakan KLT, diperoleh 3 spot yang divisualisasi dengan sinar UV 366 nm dan disemprot dengan DPPH 0,2%. Ketiga spot menunjukkan perubahan warna kuning dengan latar belakang ungu yang menandakan ekstrak positif memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengukuran secara spektrofotometri menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai IC_{50} pada 31,97437 μ g/ml, sedangkan vitamin C memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah (3,90186 μ g/ml).

Kata kunci: aktivitas antioksidan, daun bawang mekah, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati lebih dari 30.000 spesies tanaman dan 940 spesies diantaranya diketahui sebagai obat (Supriatna, 2008). Penggunaan dan permintaan terhadap tanaman obat tradisional saat ini semakin bertambah sehingga penelitian ke arah obat-obatan tradisional juga semakin meningkat. Hal ini disebabkan efek samping dari obat tradisional yang lebih kecil dan harga yang lebih terjangkau dibanding obat sintetik.

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko berbagai penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami merupakan antioksidan hasil ekstraksi bahan alami dan antioksidan buatan (sintetik) merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya menangkap radikal bebas (Prakash, 2001).

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada di sekitarnya sehingga dapat memicu timbulnya penyakit (Sunarni, dkk., 2007).

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, dkk., 2007).

Salah satu tanaman yang menarik diteliti adalah bawang mekah. Tumbuhan ini termasuk dalam famili *Iridaceae* dan berasal dari Amerika Selatan. Tanaman bawang mekah memiliki banyak manfaat yaitu sebagai anti-inflamasi (antiradang), menghentikan perdarahan (hemostatik) dan antitumor. Pada umumnya bagian tanaman yang digunakan yaitu umbi dan daun (Redaksi Agromedia. 2008; Mangan, Y. 2009).

Penelitian terkait yang pernah dilakukan oleh Kuntorini dan Astuti (2010), yaitu penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol umbi bawang mekah. Hasil pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa umbi bawang mekah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 25,3339 µg/mL (Kuntorini dan Astuti, 2010).

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan daun bawang mekah (*Eleutherine americana* Merr) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun bawang mekah, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) p.a (Merck®), vitamin C (Merck®), metanol p.a (Merck®), etanol 70%, serbuk magnesium, larutan HCl 2 N, larutan FeCl₃ 1%, larutan NaCl 10%, garam gelatin, pereaksi *Lieberman-Burchard*, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Mayer*, aquades, aluminium foil, kertas saring, dan lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck®).

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer (Shimadzu®), *rotary evaporator* (Heidolph®), oven (Mettler®), *waterbath*, timbangan analitik (Precisa®), desikator, alat-alat gelas, cawan krusibel, bejana maserasi, *chamber* KLT, botol semprot, dan botol timbang.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Daun bawang mekah dipanen dari kebun di jalan Patok 35 desa Limbung, kecamatan Sungai Raya, kabupaten Kubu Raya, provinsi Kalimantan Barat. Pemanenan daun bawang mekah dilakukan pada pagi hari saat tanaman berumur 6 bulan. Diambil daun yang sehat, tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua.

Daun bawang mekah yang telah dikumpulkan, dicuci dan dirajang halus. Kemudian daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung. Daun yang telah kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat.

Penetapan Kadar Air

Sebanyak 5 gram simplisia ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam krus porselen bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Simplisia diratakan dalam krus porselen dengan menggoyangkan krus hingga merata.

^{*)}Correspondence : Sri Wahdaningsih
E-mail : wahdanie@gmail.com

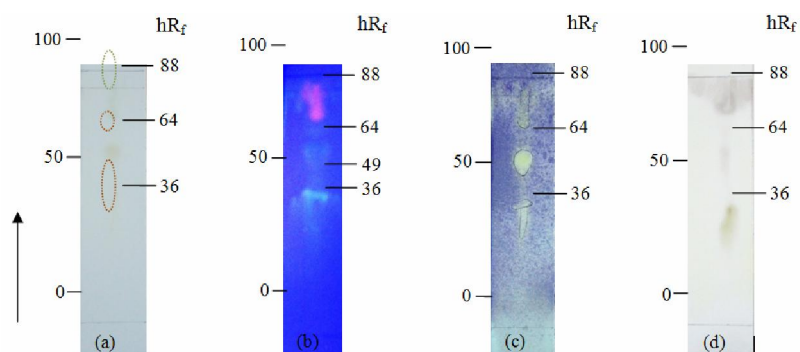
Tabel I. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Mekah

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Mayer & Dragendorff	tidak ada perubahan	-
Flavonoid	HCl pekat	merah tua	+
Saponin	aquades	membentuk buih	+
Triterpenoid/Steroid	Lieberman-Burchad	tidak ada perubahan	-
Fenolik	FeCl ₃ 1%	biru	+
Tanin	gelatin	terbentuk endapan	+

Keterangan : (+) = ada, (-) = tidak ada

Tabel II. Harga R_f dan Warna Noda Hasil KLT Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Mekah dengan Fase Gerak BAA (4:1:5) pada Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan

Spot	hR _f (R _f x 100)	Warna			
		Visual	UV 366 nm	DPPH 0,2%	Serium (IV) sulfat
1	36	hijau	biru	kuning	coklat
2	64	coklat	sedikit berfluoresensi	kuning kuat	coklat
3	88	coklat	jingga	kuning	coklat



Gambar 1. Hasil Pemisahan Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Mekah pada Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Menggunakan KLT dengan Fase Gerak BAA (4:1:5)

Keterangan:

(a) penampakan secara visual; (b) penampakan dengan sinar UV 366 nm; (c) penampakan setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,2%; (d) penampakan setelah disemprot dengan larutan serum (IV) sulfat.

Masukkan ke dalam oven, buka tutup krus, panaskan pada temperatur 100°C sampai dengan 105°C, timbang dan ulangi pemanasan sampai didapat berat yang konstan (DepKes RI 1995).

Pembuatan Ekstrak

Simplisia daun bawang mekah sebanyak 150g direndam dengan pelarut etanol 70% dalam bejana selama 3x24 jam, setiap 1x24 jam pelarut diganti dan dilakukan pengadukan sesering mungkin. Kemudian filtrat disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Susut Pengerinan

Sebanyak 1g simplisia ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam krus porselen bertutup

yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan dalam krus porselen dengan menggoyangkan krus hingga merata. Masukkan ke dalam oven, buka tutup krus, panaskan pada temperatur 100°C sampai dengan 105°C, timbang dan ulangi pemanasan sampai didapat berat yang konstan (DepKes RI 1995).

Kadar Sari yang Larut dalam Air

Sebanyak 1g ekstrak dimaserasi dengan 25mL air-kloroform LP selama 24jam menggunakan labu bersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam. Disaring cepat, sebanyak 5mL filtrat diuapkan dalam cawan dangkal berdasar rata (yang telah ditara) di atas

Tabel III. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Mekah Menggunakan Metode DPPH

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Aktivitas Antioksidan	IC ₅₀ (µg/mL)	Kekuatan Antioksidan
Blanko	0,898	-		
10	0,55273	38,44877		
20	0,50172	44,12917		
30	0,45291	49,56458	31,97437	sangat kuat
40	0,41074	54,26057		
50	0,37163	58,61581		

Tabel IV. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C Menggunakan Metode DPPH

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Aktivitas Antioksidan	IC ₅₀ (µg/mL)	Kekuatan Antioksidan
Blanko	1,086	-		
2	0,67117	38,19797		
2,5	0,63721	41,60128		
3	0,61040	43,79373	3,90186	sangat kuat
3,5	0,57235	47,29742		
4	0,53260	50,95764		

penangas air hingga kering, sisa dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen terhadap ekstrak awal (Saifudin, dkk., 2011).

Kadar Sari yang Larut dalam Etanol

Sebanyak 1g ekstrak dimaserasi dengan 25mL etanol 96% selama 24 jam seperti tertera pada monografi, menggunakan labu bersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam. Disaring cepat, sebanyak 20mL filtrat diuapkan dalam cawan dangkal berdasar rata (yang telah ditara) diatas penangas air hingga kering, panaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar dalam persen dihitung terhadap ekstrak awal (Saifudin, dkk., 2011).

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Larutan ekstrak sebanyak 3mL ditambah dengan 1mL HCl 2 N dan 6mL aquades. Kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Sebanyak 3 tetes filtrat dipindahkan pada kaca arloji, kemudian diperiksa adanya senyawa alkaloid dengan menambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorff, masing-masing sebanyak 2 tetes. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Mayer dan endapan merah dengan pereaksi Dragendorff (Marliana, dkk., 2005).

Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 3mL sampel diuapkan, dicuci dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20mL etanol kemudian disaring. Filtrat dibagi 3 bagian A, B, dan C. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambahkan 0,5mL HCl pekat kemudian dipanaskan pada penangas air, jika terjadi perubahan warna merah tua sampai ungu menunjukkan hasil yang positif (metode *Bate Smith-Metchalf*). Filtrat C ditambahkan 0,5mL HCl dan logam Mg kemudian diamati perubahan warna yang terjadi (metode *Wilstater*). Warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol atau flavonon, warna hijau sampai biru diberikan oleh aglikon atau glikosida (Harborne, 1987).

Pemeriksaan Saponin

Larutan ekstrak sebanyak 1mL ditambahkan 10mL aquades dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil dinyatakan positif apabila buih yang terbentuk stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1cm sampai 10cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Marliana, dkk., 2005).

Pemeriksaan Triterpenoid/Steroid

Sebanyak 1mL larutan ekstrak kental diuapkan sampai kering, kemudian ditambah dengan pereaksi *Lieberman-Burchad*. Jika warna berubah menjadi hijau, biru atau ungu,

menandakan adanya senyawa steroid. Jika warna berubah menjadi merah, menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Demirezer, *dkk.*, 2001).

Pemeriksaan Fenolik

Sebanyak 2mL ekstrak ditambahkan dengan 10mL aquades lalu dididihkan selama 10 menit dalam tangas air mendidih. Larutan kemudian disaring dan filtratnya ditambahkan dengan 3 tetes FeCl₃ 1%. Terjadinya warna hijau-biru menunjukkan adanya fenolik (Demirezer, *dkk.*, 2001).

Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 3mL ekstrak diekstraksi dengan 10mL aquades panas kemudian didinginkan. Setelah itu ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Kemudian filtrat ditambah garam gelatin, diamati perubahan yang terjadi. Terbentuknya endapan menunjukkan adanya tanin atau zat samak (Harborne, 1987).

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan secara Kromatografi Lapis Tipis

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan dilakukan sesuai metode Demirezer *dkk.* (2001) dengan sedikit modifikasi (Mosquera, *dkk.*, 2009). Ekstrak etanol 70% daun bawang mekah di deteksi secara KLT. Fase diam yang digunakan lempeng silika gel 60 F₂₅₄ dan dielusi dengan fase gerak BAA (4:1:5 v/v). Bercak yang terbentuk diamati dengan sinar tampak, lampu UV 366 nm, pereaksi DPPH 0,2%, dan pereaksi serum (IV) sulfat 0,2%.

Senyawa aktif penangkap radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu setelah dilakukan penyemprotan dengan larutan 0,2% DPPH dalam metanol.

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun bawang mekah dilakukan menggunakan metode Mosquera *dkk.* (2009) dengan sedikit modifikasi (Suyono, 2011). Sebanyak 2,0mL DPPH 0,1mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1mL ekstrak dengan kadar tertentu (10µg/mL, 20µg/mL, 30µg/mL, 40µg/mL, dan 50µg/mL). Kemudian dikocok sampai tercampur rata lalu didiamkan 30 menit dalam tabung gelap. Serapan larutan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,1mM. Blanko yang digunakan adalah metanol. Sebagai pembanding digunakan vitamin C (2µg/mL, 2,5µg/mL, 3µg/mL, 3,5µg/mL, dan 4µg/mL)

dengan perlakuan yang sama dengan ekstrak. Kemudian dihitung % aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun bawang mekah dan vitamin C dengan rumus :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

IC₅₀ dihitung dari kurva regresi linear antara konsentrasi pada berbagai konsentrasi versus % aktivitas antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Bahan Tanaman

Teknik ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Penggunaan panas pada suhu yang cukup tinggi dikhawatirkan akan merusak senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia, khususnya senyawa antioksidan. Penggunaan pelarut etanol 70% dikarenakan pelarut ini sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Ekstrak kental yang diperoleh yaitu sebanyak 18,0507g, dengan rendemen terhadap simplisia kering yaitu 12,03%.

Penetapan Susut Pengerinan

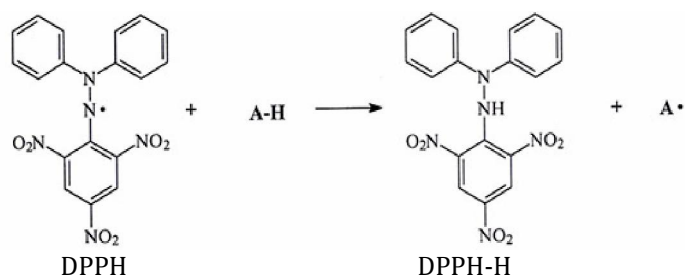
Sisa pelarut yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun bawang mekah diketahui dengan cara uji susut pengeringan. Kadar pelarut yang tersisa dalam ekstrak yaitu 24,95% sehingga ekstrak etanol 70% daun bawang mekah yang digunakan termasuk ekstrak kental karena sisa pelarut berada di antara 5-30%. Ekstrak kental (*Extractum spissum*) memiliki konsistensi liat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang.

Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Air dan Etanol

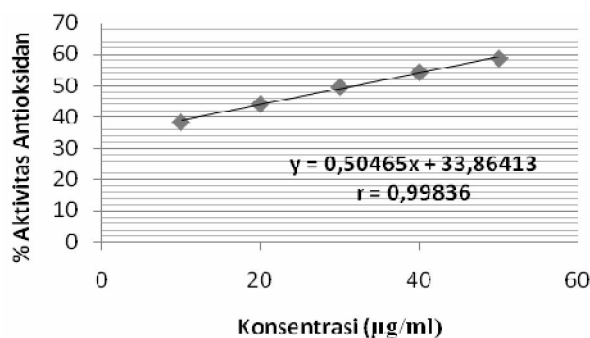
Hasil persentase yang diperoleh dari penetapan kadar sari yang larut dalam air yaitu sebesar 25,08%. Sedangkan persentase dari penetapan kadar sari yang larut dalam etanol yaitu sebesar 48,69%. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa senyawa yang terdapat dalam daun bawang mekah lebih larut dalam pelarut etanol dibandingkan dengan pelarut air. Sehingga pemilihan penggunaan pelarut etanol dalam mengekstraksi simplisia daun bawang mekah merupakan pilihan yang tepat.

Skrining Fitokimia

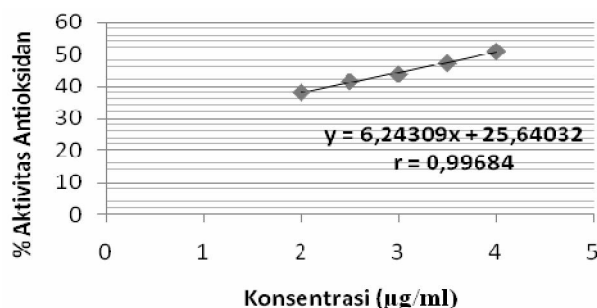
Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel I, dapat dilihat bahwa pada ekstrak etanol 70% dari daun bawang mekah mengandung senyawa yang tergolong flavonoid, saponin, fenolik, dan tanin. Untuk alkaloid, triterpenoid dan steroid adalah senyawa yang cenderung bersifat non polar sedangkan pada proses ekstraksi daun



Gambar 2. Struktur DPPH Sebelum dan Sesudah Bereaksi dengan Antioksidan (AH)



Gambar 3. Kurva Regresi Linier Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Mekah Menggunakan Metode DPPH



Gambar 4. Kurva Regresi Linier Pengujian Aktivitas Antioksidan Vitamin C Menggunakan Metode DPPH

bawang mekah digunakan pelarut etanol 70% yang memiliki sifat lebih cenderung polar. Oleh sebab itu kemungkinan senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid tidak ikut terekstraksi.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan secara KLT

Fase gerak yang digunakan pada uji pendahuluan secara KLT yaitu n-butanol : asanasetat : air (4:1:5). Pemilihan fase gerak tersebut dipilih berdasarkan pada hasil optimasi yang telah dilakukan menggunakan beberapa jenis pelarut organik tunggal maupun campuran. Pemisahan senyawa terbaik dihasilkan dengan menggunakan fase gerak BAA (4:1:5). Selain itu berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak etanol 70% daun

bawang mekah positif mengandung senyawa golongan flavonoid. Menurut Harborne (1987), untuk senyawa golongan flavonoid dapat digunakan fase gerak BAA dalam memisahkan senyawa pada kromatografi lapis tipis⁽¹²⁾.

Hasil pemisahan ekstrak menggunakan fase BAA (4:1:5), dihasilkan 3 spot yang memisah dengan nilai R_f 36, 64 dan 88. Secara visual dapat dilihat bahwa spot pada R_f 36 dan 64 berwarna coklat, sedangkan pada R_f 88 berwarna hijau (gambar 1.a).

Deteksi menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 366nm juga dilakukan untuk mengetahui spot yang dapat berfluoresensi (berpendar) sehingga dapat terlihat secara visual (gambar 1.b). Penampakan spot pada lampu UV 366

nm adalah karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom pada spot tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan hasil emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali semula sambil melepaskan energi (Rahayu, dkk. 2010).

Setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,2%, uji aktivitas antioksidan secara kualitatif ini menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning dengan latar ungu pada ketiga spot (gambar 1.c).

Pengujian terhadap keberadaan senyawa kimia organik secara umum yang ada di dalam ekstrak dilakukan menggunakan pereaksi semprot serum (IV) sulfat. Hasil dari pengujian ini, pada plat KLT terbentuk spot yang berwarna coklat setelah disemprot dengan larutan serum (IV) sulfat dan dilakukan pemanasan (gambar 1.d). Warna coklat yang terbentuk disebabkan karena dalam serum (IV) sulfat terdapat H_2SO_4 yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif sehingga panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang. Oleh sebab itu spot yang sebelumnya tidak terlihat menjadi tampak oleh mata.

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Spektrofotometer

Berdasarkan hasil pengukuran, ekstrak etanol 70% daun bawang mekah yang direaksikan dengan DPPH setelah diinkubasi selama 30 menit mengalami perubahan warna dari ungu menjadi lebih pucat. Perubahan warna tersebut mempengaruhi nilai absorbansi DPPH. Seperti yang terlihat pada tabel III, semakin tinggi konsentrasi sampel ekstrak etanol 70% daun bawang mekah yang digunakan maka semakin rendah nilai absorbansi dari larutan DPPH. Perubahan warna ini terjadi dikarenakan adanya senyawa yang memberikan atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil yaitu DPPH-H (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin) (Molyneux, 2004).

Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkap radikal adalah nilai IC_{50} (*Inhibition concentration* 50%). Nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) dengan simbol x dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata dengan simbol y dari seri replikasi pengukuran.

Persamaan regresi linier dari hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun bawang mekah dengan larutan DPPH 0,1 mM menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 514,60 nm yaitu $y=0,50465x+33,86413$ dengan nilai koefisien korelasi 0,99836. Sedangkan hasil pengukuran Vitamin C pada panjang gelombang maksimum 515,30 nm yaitu $y=6,24309x+25,64032$ dengan nilai koefisien korelasi 0,99684.

Hasil percobaan menunjukkan ekstrak etanol memiliki nilai IC_{50} 31,97437 $\mu g/mL$ (tabel III; gambar 3). Vitamin C sebagai kontrol positif memiliki nilai IC_{50} 3,90186 $\mu g/mL$ (tabel IV; gambar 4).

Nilai IC_{50} ekstrak etanol 70% daun bawang mekah menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (kurang dari 50 $\mu g/mL$) begitu juga dengan vitamin C. Tetapi aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun bawang mekah lebih rendah jika dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif karena semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Hal itu dikarenakan vitamin C merupakan senyawa murni, sedangkan ekstrak etanol 70% daun bawang mekah terdiri dari beberapa campuran senyawa.

Senyawa flavonoid, fenolik dan tanin diperkirakan merupakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan. Kemampuan senyawa flavonoid dan fenolik sebagai antioksidan telah dibuktikan oleh Yuhernita dan Juniarti pada tahun 2011 dalam penelitiannya terhadap aktivitas antioksidan daun surian (*Toona sureni* (Bl.) Merr.). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa daun surian memiliki aktivitas antioksidan dikarenakan terdapat kandungan senyawa flavonoid dan fenolik didalamnya (Zhang, dan Lin, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Zhang dan Lin pada tahun 2009 menunjukkan bahwa senyawa tanin yang diekstraksi dari buah jambang (*Syzygium cumini*) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Cholisoh, 2007).

Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid, fenolik dan tanin dikarenakan ketiga senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Senyawa fenol ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil⁽²⁰⁾. Aktivitas peredaman radikal bebas senyawa fenol dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil yang dimiliki oleh senyawa fenol

maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Jika dilihat dari struktur dan jumlah gugus hidroksilnya, maka urutan kekuatan antioksidan dari yang terbesar sampai yang terkecil yaitu tanin, flavonoid dan fenolik.

KESIMPULAN

Simpulan yang dapat diambil berdasarkan hasil penelitian ini antara lain: Ekstrak etanol 70% daun bawang mekah terdeteksi mengandung beberapa komponen bioaktif, yaitu flavonoid, saponin, fenolik dan tanin; Ekstrak etanol 70% daun bawang mekah positif memiliki aktivitas antioksidan menggunakan pereaksi DPPH 0,2%; Nilai IC₅₀ ekstrak etanol 70% daun bawang mekah adalah sebesar 31,97437 µg/mL. Sedangkan vitamin C sebagai kontrol positif memiliki nilai IC₅₀ sebesar 3,90186 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Supriatna, J. 2008. *Melestarikan Alam Indonesia*. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia, Hal 403.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories: Analytical Progress*. Volume 19. Nomor 2, Hal 1-4.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius.
- Sunarni T, Suwidjiyo P dan Ratna A. 2007. Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepek (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Majalah Farmasi Indonesia*. Volume 18. Nomor 3, Hal 111-116.
- Redaksi Agromedia. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta : PT. Agromedia Pustaka, Hal 22-23.
- Mangan, Y. 2009. *Solusi Mencegah dan Mengatasi Kanker*. Jakarta : Agromedia Pustaka, Hal 64.
- Kuntorini, E. M. dan Astuti, M. D. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.). *Sains dan Terapan Kimia*. Volume 4. Nomor 1, Hal 15-22.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Saifudin, A., dkk., 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Hal 179; 333-337; 549-553.
- Marliana, S. D., Suryanti, V. dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol *Biofarmasi*. Volume 3. Nomor 1, Hal 26-31.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan kedua Bandung : Penerbit ITB, Hal 70; 147-148; 243-235.
- Demirezer, L. O., Kruuzum-Uz, A., Bergere, I., Schiewe, H. J., dan Zeeck, A., 2001. The Structures of Antioxidant and Cytotoxic Agents from Natural Source : Anthraquinones and Tannin from Roots of *Rumex patientia*. *Phytochemistry*. 58: 1213-1217.
- Mosquera, O., Correa, Y. M., dan Nino, J., 2009. Antioxidant Activity of Plants Extract from Colombian Flora, *Braz. J. Pharmacogn*. Volume 19. Nomor 2A, Hal 382-387.
- Suyono, H. C. 2011. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif pada Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Achalypha Indica* L.). *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN.
- Rahayu, D.S., dkk. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dengan Metode 1,1 difenil 2 pikrilhidrazil (DPPH). *Skripsi*. Semarang : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Dipenogoro.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, Hal 211-219
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara, Sains*. Volume 15. Nomor 1, Hal 48-52.
- Zhang, L. L. dan Lin, Y. M. 2009. Antioxidant Tannins from *Syzygium cumini* Fruit. *African Journal of Biotechnology*. Volume 8. Nomor 10, Hal 2301-2309.
- Cholisoh, Z., Utami, W. 2007. Uji Daya Reduksi Ekstrak Etanol 70% Biji Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) Terhadap Ion Ferri. *Pharmakon*, Vol. 8, No. 2, hal. 33-39.